

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
21. Dezember 2000 (21.12.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/77508 A1

(51) Internationale Patentklassifikation?: G01N 27/447

GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER SPEKTROCHEMIE UND ANGEWANDTEN SPEKTROSKOPIE E.V. [DE/DE]; Bunsen-Kirchhoff-Strasse 11, D-44139 Dortmund (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/05205

(72) Erfinder; und

(22) Internationales Anmeldedatum:
6. Juni 2000 (06.06.2000)

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): EISENBEISS, Friedhelm [DE/DE]; Luisenstr. 28, D-64331 Weiterstadt (DE). STANISLAWSKI, Bernd [DE/DE]; Ilkenhansstr. 13, D-60433 Frankfurt (DE). GREVE, Thomas [DE/DE]; Dieburger Str. 238, D-64287 Darmstadt (DE). HERGENRÖDER, Roland [DE/DE]; Immermannstr. 35, D-44147 Dortmund (DE). WEBER, Günther [DE/DE]; Justusweg 2, D-44149 Dortmund (DE). GRASS, Benedikt [DE/DE]; Schlesien Str. 30, D-59457 Werl (DE). NEYER, Andreas [DE/DE]; Langerfelderstr. 69a, D-56838 Iserlohn (DE). JÖHNCK, Matthias [DE/DE]; Dülmen Str. 27a, D-48163 Münster (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

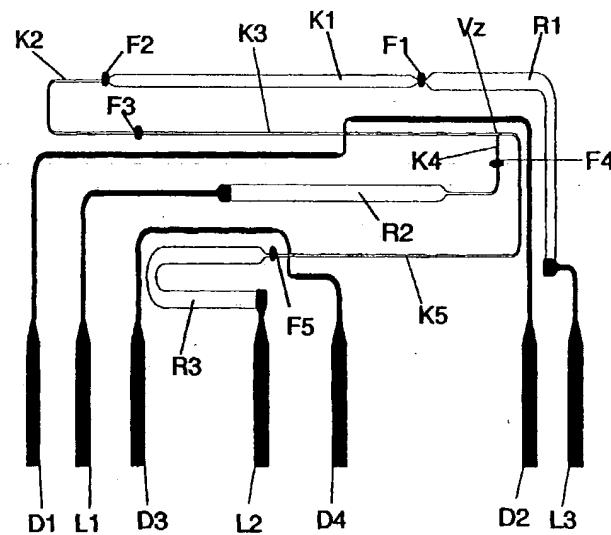
(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 27 535.1 16. Juni 1999 (16.06.1999) DE

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: MINIATURIZED ANALYTICAL SYSTEM WITH A DEVICE FOR WITHDRAWING SUBSTANCES

(54) Bezeichnung: MINIATURISIERTES ANALYSENSYSTEM MIT VORRICHTUNG ZUM AUSSCHLEUSEN VON SUBSTANZEN



(57) Abstract: The invention relates to a device for withdrawing defined components of samples from the separation channel and transporting them to another channel after a preparative or analytical liquid phase separation in flat, miniaturized analytical systems. The withdrawal device can be directly integrated into the analytical system by positioning detectors, for example for measuring the conductivity, any place in the analytical system.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 00/77508 A1



(74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH;
D-64271 Darmstadt (DE).

FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL,
PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

Veröffentlicht:

- Mit internationalem Recherchenbericht.
- Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Ausschleusen definierter Teile von Proben nach einer präparativen oder analytischen Flüssigphasentrennung in planaren, miniaturisierten Analysensystemen aus dem Trennkanal in einen weiteren Kanal. Durch die Möglichkeit zur Positionierung von Detektoren, wie beispielsweise zur Leitfähigkeitsmessung, an beliebigen Stellen im Analysensystem, kann die Ausschleusevorrichtung direkt in das Analysensystem integriert werden.

**Miniaturisiertes Analysensystem mit
Vorrichtung zum Ausschleusen von Substanzen**

- Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Ausschleusen definierter
- 5 Fraktionen von Proben nach einer präparativen oder analytischen Flüssigphasentrennung in planaren, miniaturisierten Analysensystemen aus dem Trennkanal in einen weiteren Kanal bzw. in eine weitere analytische Vorrichtung.
- 10 Planare, miniaturisierte Analysensysteme bestehen aus Bauteilen mit eingearbeiteten Kanälen, in denen der Transport und/oder die Auf trennung gelöster Analyte beispielsweise mittels Kapillarelektrophorese oder Isotachophorese erfolgt. Ein derartiges Kanalsystem kann Y-förmige Verzweigungen und/oder X-förmige Kreuzungen (siehe Abbildung 1)
- 15 aufweisen. Dabei sind die Winkel zwischen den Kanälen frei wählbar.
- Für das Einschleusen von Probenmaterial wird üblicherweise eine X-förmige Anordnung der Kanäle benutzt, zum Ausschleusen eine Y-Verzweigung. Die Probenbestandteile werden dazu durch Anlegen einer
- 20 Spannung an den Enden der Kanäle elektrokinetisch transportiert. Bei Y-verzweigten Kanälen kann beispielsweise der elektrokinetische Transport umgelenkt werden, wenn die elektrischen Potentiale von dem einen Kanal auf den anderen abzweigenden Kanal geschaltet werden. Auf diese Weise kann eine Fraktion einer Probe durch den abzweigenden Kanal
- 25 ausgeschleust werden.
- Die Steuerung derartiger Ausschleusevorgänge erfolgt entweder zeitlich definiert oder aktiv gesteuert bei vorheriger Durchgangsanalyse. Bei der zeitgesteuerten Ausschleusung wird sowohl die exakte Kenntnis des
- 30 Elektropherogramms als auch eine exakte Reproduzierbarkeit des Trennvorgangs vorausgesetzt. Der zu isolierende Analyt kann also nur aus einer bekannten Probe nach vorhergehender experimenteller Bestimmung seiner

Trennzeit ausgeschleust werden. Besonders für die Kapillarelektrophorese ist dieses Verfahren ungeeignet, da es durch Anlagerung von oberflächenaktiven Substanzen zu einer Veränderung des Zeta-Potentials an den Kanalwänden kommt. Dadurch tritt eine Modulation der elektroosmotischen
5 Kraft und somit auch eine Modulation des zeitlichen Musters des Elektropherogramms auf. Aus diesem Grund wird eine zeitgesteuerte Ausschleusung meist nur zur Kontrolle oder Bestätigung durchgeführt.

Wesentlich genauer ist eine Ausschleusung der Analyte nach vorangegangener direkter Analyse. Von F. von Heeren et al. (Anal. Chem 68(13) 10 (1996), 2044-2053) wird die aktiv gesteuerte Ausschleusung von Natrium-Fluoreszein beschrieben. Die Position des Fluoreszeins während des Trennprozesses kann kontinuierlich von einem Beobachter mit einer geeigneten optischen Vorrichtung verfolgt werden. Sobald sich die 15 Fluoreszein-Bande an der Ausschleusungsstelle befindet, wird manuell ein Schaltvorgang ausgelöst, der zum Ausschleusen führt. Jedoch könnten selbst bei Automatisierung dieses Systems lediglich farbige oder fluoreszierende Substanzen detektiert und gezielt ausgeschleust werden. Dies bedeutet eine starke Einschränkung.
20

Andere Detektorsysteme für Ausschleusevorrichtungen konnten bislang nicht direkt in miniaturisierte, planare Analysensysteme integriert werden, so daß die Detektion und Separierung von Substanzen meist nach deren Austritt aus dem Analysensystem erfolgt.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es deshalb, für miniaturisierte 25 planare Analysensysteme eine Vorrichtung zum Ausschleusen von Substanzen bereitzustellen, die direkt in die Analysensysteme integriert ist und aktiv gesteuert werden kann. Bevorzugterweise sollte die Vorrichtung zum Ausschleusen mit Detektionsvorrichtungen kombinierbar sein, die auf unterschiedlichen Prinzipien beruhen; somit wäre das Ausschleusen von 30 Analyten vielseitig anwendbar.

- Für planare Vorrichtungen für elektrophoretische Trennverfahren wurde eine Anordnung umfassend zumindestens drei Transportelektroden, eine Detektionsvorrichtung und eine Schaltvorrichtung gefunden, die es erlaubt,
- 5 gezielt Fraktionen während des Trennvorgangs auszuschleusen. In bevorzugten Ausführungsformen ist die Detektionsvorrichtung als elektrische Leitfähigkeits- Impedanz- oder Potentialmeßvorrichtung ausgebildet.
- 10 Gegenstand der Erfindung ist daher eine Vorrichtung zum Ausschleusen von Fraktionen einer Probe für planare mikrostrukturierte Analysensysteme, die im wesentlichen aus einem Kanalsystem mit mindestens einer Y-Verzweigung , mindestens drei Transportelektroden und mindestens einer Detektionsvorrichtung vor besagter Verzweigungsstelle des Kanalsystems
- 15 und einer elektrischen Schaltvorrichtung bestehen.
- Bevorzugte Ausführungsform der Erfindung ist eine Vorrichtung zum Ausschleusen, in der die Detektionsvorrichtung ein elektrochemischer Detektor ist.
- 20 Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist weiterhin die Verwendung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung in einem planaren mikrostrukturierten Analysensystem.
- 25 Abbildung 1 zeigt beispielhaft eine X-Kreuzung (X) und eine Y-Verzweigung (Y) eines Kanalsystems entsprechend dem Stand der Technik.

Abbildung 2 veranschaulicht das Prinzip der Ausschleusung mittels der erfindungsgemäßen Vorrichtung.

Abbildung 3 und 4 zeigen schematisch Analysensysteme, in die eine erfindungsgemäße Vorrichtung zum Ausschleusen von Substanzen integriert ist.

- 5 Analysensysteme, in die eine erfindungsgemäße Vorrichtung zum Ausschleusen von Substanzen integriert werden kann, sind planare mikrostrukturierte Systeme, die zur Auftrennung von Substanzen dienen. Derartige überwiegend zweidimensionale Analysensysteme, bieten durch ihre geringe Größe und einfache Herstellung viele Vorteile gegenüber 10 makroskopischen Analysensystemen. Die Analysensysteme können zusätzliche Analysevorrichtungen oder Vorrichtungen zur mikropräparativen Derivatisierung beinhalten. Durch die Möglichkeit, Detektoren bzw. eine erfindungsgemäße Vorrichtung zum Ausschleusen schon bei der Herstellung von Analysensystemen direkt in diese Systeme zu integrieren, 15 können Substanzen schon während oder nach der Trennung in dem Analysensystem analysiert und separiert werden. Beispielsweise in Analysensysteme, in denen Substanzen nicht nur getrennt und analysiert werden, sondern auch weiteren z.B. Derivatisierungsschritten unterzogen werden, können auch mehr als eine erfindungsgemäße Vorrichtung zum 20 Ausschleusen integriert werden.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung zum Ausschleusen besteht aus einem Detektorsystem, das ein Kanalsegment direkt vor dem Ausschleusungskanal analysiert, und einem verzweigten Kanalsystem mit entsprechenden 25 Transportelektroden. Sobald der Detektor anzeigt, daß sich der gewünschte Analyt kurz vor der Abzweigung befindet, werden die Transportelektroden an den Enden der Kanäle umgeschaltet. Der weitere Transport erfolgt nicht mehr entlang des Trennkanals sondern in den abzweigenden Ausschleusungskanal. Dieser Vorgang wird beendet, wenn 30 der Detektor anzeigt, daß die Analytbande die Ausschleusungsstelle passiert hat. Auf diese Weise lassen sich definierte Teile einer Probe präzise vom Rest der Probe trennen.

Der Vorgang des Ausschleusens umfaßt demnach folgende Schritte:

- Die räumlich aufgetrennte Probe wird durch entsprechende elektrische Spannung zu einer Verzweigungsstelle transportiert.
- 5 • Ein Detektor, der dicht vor der Verzweigungsstelle sitzt, mißt die vorbeiströmenden Komponenten oder eine Markersubstanz, die jeweils den Anfang und das Ende eines auszuschleusenden Bereichs kennzeichnet.
- 10 • Sobald die gewünschte Komponente detektiert wird, werden die Spannungen so umgeschaltet, daß der Fluß in den abzweigenden Kanal gelenkt wird.
- Nachdem die gewünschte Komponente den Detektor passiert hat, wird die Spannung zurückgeschaltet.

Auf diese Weise ist nun ein Teil der Probe räumlich vom Rest der Probe
15 getrennt.

Die Steuerung des gesamten Vorgangs, besonders das Umschalten der Potentiale zwischen den Elektroden, erfolgt bevorzugt mittels einer elektronischen Schaltvorrichtung. Derartige Vorrichtungen und deren
20 Anwendung sind dem Fachmann bekannt. Die abgetrennten Substanzen können anschließend innerhalb des Analysensystems weiterführenden Schritten, wie gesonderten Analysen, Derivatisierungen etc. unterzogen werden. Weiterhin können sie auch gezielt aus dem Kanalsystem des Analysensystems entnommen werden. Dazu wird das Kanalsystem mit
25 zusätzlichen Ausgängen versehen. Diese Ausgänge befinden sich vorzugsweise in den Ausschleusungskanälen und werden mittels eines Fluidikanschlusses, wie einer dichtschließenden Pumpe oder Pumpen und Ventilen, abgeschlossen. Typischerweise schließt sich direkt eine Kapillare an, über die die abgetrennte Fraktion in weitere Behältnisse oder Geräte
30 außerhalb des Analysensystems überführt werden kann. Befindet sich demnach eine separierte Fraktion in einem Ausschleusungskanal, so kann

sie hydromechanisch, beispielsweise elektroosmotisch oder mittels Mikropumpen, aus einem Ausgang heraus aus dem Analysensystem entfernt werden.

- 5 Bei der ausgeschleusten Fraktion kann es sich sowohl um einen störenden Bestandteil handeln, der abgesondert werden soll, damit der Rest der Probe weiter untersucht werden kann, als auch um eine Fraktion, d.h. einen Teil der Probe, der von dem Rest der Probe getrennt weiteren Analyse- oder Derivatisierungsschritten unterzogen werden soll. Die so zu
10 analysierenden und separierenden Probenbestandteile können ionisch gelöst, emulgiert, suspendiert, kolloidal oder biologisch zellulär in vorwiegend wässriger Lösung vorliegen.

- Basis der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist ein auf dem zweidimensionalen Analysensystem befindlicher Detektor. Da miniaturisierte Analysensysteme je nach ihrer konkreten Anwendung sehr unterschiedlich strukturiert sein können, muß der Detektor an beliebigen Stellen des Analysensystems positionierbar sein. Für die erfindungsgemäße Vorrichtung können sowohl Detektoren eingesetzt werden, deren
20 maßgeblichste Teile integriert werden können, wie
- Leitfähigkeitsdetektoren (kapazitive, induktive, ohmsche Messung),
- elektrochemische Detektoren (z.B. Amperometrie, ISFET),
- elektrische Temperaturmessung,
aber auch externe Detektoren, bei denen nur Teile, z.B. Linsen oder
25 Faseroptik, in das Analysensystem integriert werden, wie
- optische Detektoren (z.B. Brechungsindex, Temperatur, Absorption, Fluoreszenz, Raman, Lumineszenz)
- NMR
- radioaktives Labeling
30 - magnetisches Labeling

Als Detektorvorrichtung werden erfindungsgemäß bevorzugt Leitfähigkeitsdetektoren und optische Detektoren eingesetzt. Für optische Detektoren

kann beispielsweise eine Aufnahmeverrichtung für Lichtleitfaseroptik integriert werden.

- Für Analysensysteme, in denen Substanzen elektrophoretisch aufgetrennt werden, wird die Forderung einer universellen Detektionsmethode besonders gut von elektrischen Detektionsmethoden wie der Leitfähigkeitsmessung erfüllt. Die Charakterisierung der Analyte erfolgt dabei über deren spezielle elektrische Leitfähigkeit. Eine bestimmte Substanz generiert in einem gegebenen Elektrolytsystem immer die gleiche relative Leitfähigkeit.
- Dies gilt für aufeinander folgende Messungen in einem miniaturisiertem Analysensystem und auch für Messungen, die in mehreren miniaturisierten Analysensystemen eines Bautyps erfolgen.
- Bevorzugt wird in der erfindungsgemäßen Vorrichtung daher eine elektrische Leitfähigkeitsmessung verwendet, die im Falle von direkt kontaktierenden Elektroden den elektrischen Strom oder den elektrischen Spannungsabfall erfaßt oder aber im Falle von galvanisch entkoppelten Elektroden über die Messung des dielektrischen Widerstandes erfolgt.
- Zur Integration eines Leitfähigkeitsdetektors in einem zweidimensionalen Analysensystem müssen Leitfähigkeitselektroden an beliebigen Stellen des Systems, vor allem kurz vor Abzweigungen entlang des Kanalsystems, integriert werden. Dies ist nur durch eine besondere Art des Aufbaus eines solchen Systems möglich. Zum einen muß das Kanalsystem gas- und flüssigkeitsdicht verschlossen sein, zum anderen muß gewährleistet werden, daß chemisch inerte Elektroden präzise und reproduzierbar an den gewünschten Positionen angebracht werden können. Nur durch spezielle Techniken zur Herstellung zweidimensionaler Analysensysteme können die obengenannten Anforderungen erfüllt werden.
- Mikrofluide bzw. mikrostrukturierte Analysensysteme bestehen in der Regel aus einer Durchflußeinheit, die zumindest das Kanalsystem sowie optional

Aussparungen zur Integration peripherer Einrichtungen aufweist, und peripheren Einrichtungen, wie Detektoren, Fluidikanschlüssen, Vorratsgefäßen, Reaktionskammern, Pumpen, Steuervorrichtungen etc., die in die Durchflußeinheit integriert bzw. daran angeschlossen werden

5 können. Als Durchflußeinheiten für mikrofluide Analysensysteme mit Meß- und Steuervorrichtungen zur elektrischen Leitfähigkeit gelten erfindungsgemäß Systeme, in denen durch Zusammenfügen von mindestens zwei Bauteilen, wie z.B. Substrat und Deckel, Mikrokanalstrukturen erzeugt werden, die flüssigkeits- und/oder gasdicht verschlossen werden können.

10

Die erfindungsgemäßen Systeme bestehen typischerweise aus mindestens zwei Bauteilen, einem Deckel, der mit den Elektroden versehen ist, und einem mikrostrukturierten Substrat. Nach Produktion der Bauteile werden diese durch ein spezielles Bonding-Verfahren zusammengefügt. Auf diese Weise ist es möglich, die erfindungsgemäße Ausschleusevorrichtung in 15 planare Analysensysteme zu integrieren.

15

Die Bauteile der Durchflußeinheit der Analysensysteme bestehen bevorzugt aus kommerziell erhältlichen thermoplastischen Kunststoffen, 20 wie PMMA (Polymethylmethacrylat), PC (Polycarbonat), Polystyrol oder PMP (Polymethylpenten), cycloolefinischen Copolymeren oder duroplastischen Kunststoffen, wie beispielsweise Epoxidharzen. Bevorzugterweise bestehen alle Bauteile eines Systems aus demselben Material.

25

Die Bauteile können nach dem Fachmann bekannten Methoden hergestellt werden. Bauteile, die Mikrostrukturen enthalten, können beispielsweise durch etablierte Verfahren, wie Heißprägen, Spritzguß oder Reaktionsguß, produziert werden. Besonders bevorzugt werden Bauteile eingesetzt, die 30 nach bekannten Techniken zur Massenproduktion vervielfältigt werden können. Mikrostrukturierte Bauteile können Kanalstrukturen mit Querschnittsflächen zwischen 10 und 250000 µm² besitzen. Für die

erfindungsgemäß Ausschleusevorrichtung muß das Kanalsystem neben Bereichen zur Probenaufgabe und einem Trennkanal mindestens eine von einem Trennkanal ausgehende X- oder Y-Verzweigung aufweisen. Zur Integration mehrerer Ausschleusungsvorrichtungen können an beliebigen 5 Stellen des Kanalsystems weitere Verzweigungen eingeführt werden.

Die Elektroden, die für die erfindungsgemäß Ausschleusevorrichtung benötigt werden, sind Transportelektroden, die sich an den Enden der verzweigten Kanäle befinden und ein Umschalten des Potentials zwischen 10 den beiden Kanälen ermöglichen, sowie Detektionselektroden, die bevorzugt zwischen 40 mm und 0,1 µm vor der Abzweigung positioniert sind.

Zur Integration der Elektroden in das Analysensystem bzw. die erfindungsgemäß Vorrichtung, werden die Elektroden bevorzugt an einem Bauteil 15 des Systems, dem Deckel angebracht. Sie müssen dazu eine hinreichende Haftfestigkeit auf dem Kunststoffbauteil aufweisen. Dies ist sowohl für das Zusammenfügen der einzelnen Bauteile als auch für den späteren Einsatz der Analysensysteme von Bedeutung. Werden bei der Verbindung der Bauteile z.B. Klebstoffe eingesetzt, darf der Klebstoff die Elektrode nicht 20 von der Kunststoffoberfläche ablösen. Weiterhin sollten die Elektroden aus chemisch inerten Materialien, wie z.B. Edelmetallen (Platin, Gold) bestehen.

Die Metallisierung von Kunststoffoberflächen erfolgt typischerweise durch 25 elektrochemisches Abscheiden von Metallen aus Metallsalzlösungen. Hierfür ist es allgemein üblich, in einem mehrstufigen Prozeß zunächst die Kunststoffoberfläche chemisch oder mechanisch vorzubehandeln, einen diskontinuierlichen Primer aufzubringen und abschließend die 30 elektrochemische Abscheidung durchzuführen. Beschreibungen dieser Metallisierungstechniken finden sich z.B. in US 4,590,115, EP 0 414 097, EP 0 417 037 und bei Wolf und Gieseke (G.D. Wolf, H. Gieseke, „Neues Verfahren zur ganzflächigen und partiellen Metallisierung von Kun-

stoffen," *Galvanotechnik* 84, 2218-2226, 1993). Den naßchemischen Verfahren gemeinsam ist, daß relativ aufwendige Vorbehandlungsprozesse notwendig sind, um ausreichende Haftfestigkeiten zu erreichen.

- 5 In DE 196 02 659 wird das haftfeste Aufbringen von Kupfer auf mehrphasige Polymermischungen mittels Aufdampfen oder Sputtern beschrieben. Als Ursache der guten Haftung wird die Zusammensetzung der Polymermischungen genannt. Demnach müssen die Mischungen Polyarylensulfide, Polyimide oder einen aromatischen Polyester enthalten.

10

Der Einfluß von Plasmavorbehandlungen zur Erzielung besserer Hafteigenschaften von Metallen auf Kunststoffoberflächen wird von Friedrich (J. Friedrich, „Plasmabehandlung von Polymeren“, *kleben & dichten* 41, 28-33, 1997) am Beispiel verschiedener kommerziell erhältlicher Thermoplaste zusammengefaßt.

15

Besonders bevorzugt werden die Elektrodenstrukturen auf den Kunststoffbauteilen mittels einer Zwei-Schicht-Technik erzeugt. Dazu wird zunächst eine haftvermittelnde Schicht aus Chromoxid erzeugt. Im Gegensatz zu Edelmetallen zeigt Chromoxid hervorragende Hafteigenschaften auf Kunststoffoberflächen. Zudem ist Chromoxid im Gegensatz zu elementarem Chrom und anderen Übergangsmetallen wesentlich beständiger gegenüber Redoxprozessen. Auf die Haftsicht aus Chromoxid wird dann das Edelmetall, wie beispielsweise Platin oder dessen Legierungen oder Gold, aufgetragen.

20

Das selektive Aufbringen von Chromoxid und der darauf abzuscheidenden Edelmetallschicht auf Kunststoffsubstraten erfolgt bevorzugt im lift-off-Verfahren oder mittels der Schattenmaskentechnik oder der Strukturierung von zunächst ganzflächig aufgebrachten metallischen Schichten. Diese Verfahrenstechniken sind Standardprozesse der Mikrostrukturtechnik. Im

25

folgenden werden die für die Zwei-Schicht-Technik erforderlichen Arbeitsschritte für die genannten Verfahren kurz beschrieben.

- Lift-off-Verfahren: Das selektiv zu metallisierende Kunststoffbauteil wird mit
- 5 einem Photolack beschichtet. Dieser Photolack darf dabei das zu metallisierende Kunststoffteil nicht bzw. nur leicht anlösen. Für PMMA hat sich z.B. ein Photolack der Firma Allresist, Berlin (AR 5300/8) als geeignet erwiesen. Nach Belichtung und Entwicklung der zu metallisierenden Strukturen erfolgt das Aufbringen der metallischen Schichten in einer
- 10 Sputteranlage. Das Aufbringen der Chromoxidschicht erfolgt während des Sputterprozesses durch das Einleiten von Sauerstoff in das typischerweise verwendete Argon-Plasma der Sputteranlage. Als Sputtertarget wird ein konventionelles Chrom-Target verwendet. Typische Chromoxid-Schichtdicken sind 10-50 nm. Alternativ kann direkt ein Chromoxid-Target eingesetzt werden. Das Sputtern von Platin bzw. dessen Legierungen oder von Gold wird direkt anschließend unter Standardbedingungen, d.h. im
- 15 Argon-Plasma, durchgeführt. Als vorteilhaft für die Haftfestigkeit der Chromoxidschicht hat sich außerdem ein vor dem Sputtern des Chromoxids durchgeführtes Rücksputtern des Kunststoffs in einem
- 20 Sauerstoff/Argon (ca. 5 Vol% / 95 Vol%) Plasma erwiesen. In dem eigentlichen lift-off-Prozeß wird der noch vorhandene Photolack und mit diesem die auf dem Lack befindliche Metallschicht in einem Entwickler der Firma Allresist (AR 300-26) von dem Kunststoffbauteil abgelöst.
- 25 Schattenmaskentechnik: Das selektiv zu metallisierende Kunststoffteil wird mit einer sogenannten Schattenmaske abgedeckt. Diese hat an den zu metallisierenden Bereichen Aussparungen. Durch diese hindurch werden die Metallschichten in Analogie zum lift-off-Verfahren aufgesputtert.
- 30 Strukturierung flächiger metallischer Schichten: Auf einem selektiv zu metallisierenden Kunststoffteil wird zunächst ganzflächig eine Metallschicht in Analogie zum bereits beschriebenen Sputterprozeß aufgebracht. Diese

- wird in nachfolgenden Prozeßschritten, entweder durch selektiven Abtrag mittels z.B. Laserablation (Gold und Platin) oder z.B. durch selektives naßchemisches Ätzen, strukturiert. Zur Strukturierung mittels naßchemischem Ätzen wird auf die Metallschicht zunächst ein Photolack
- 5 (Hoechst AG, Deutschland; AZ 5214) aufgebracht, belichtet und entwickelt. Gold wird dann in Cyanid-Lösung in den belichteten Bereichen abgelöst. Die elektrisch nicht leitende Chromoxid-Schicht bleibt zurück. Abschließend wird der verbliebene Photolack mit einem Entwickler (z.B. AR 300-26, Fa. Allresist, Berlin) abgelöst.
- 10 Die Haftfestigkeit von mit Chrom als auch mit Chromoxid als Haftsicht mittels Sputtertechnik hergestellten Elektroden wurde mit Hilfe von Abreißtests überprüft. Die Haftfestigkeit der Chromoxidschichten ist deutlich größer. Auch bei Ultraschallbehandlung in alkalischer Lösung sind die
- 15 Metallschichten, welche mit Chromoxid als Haftsicht hergestellt wurden, verglichen mit Metallschichten, die mit Chrom als Haftsicht hergestellt wurden, deutlich beständiger.
- Nach Produktion und Vorbereitung der einzelnen Bauteile werden diese
- 20 nach dem erfindungsgemäßen Verfahren zusammengefügt. Bevorzugterweise ist ein Bauteil, das Substrat, mikrostrukturiert und mit rückseitigen Bohrungen bzw. Aussparungen zum Befüllen der Kanäle und/oder
- 25 Kontaktieren der Elektroden versehen. Des Weiteren hat sich auch die Verwendung einer sogenannten Dichtlippe, d.h. einer die Kanalstrukturen vollständig umschließenden Erhebung auf den Substraten mit Höhen zwischen typischerweise 0,5 bis 5 µm, hinsichtlich des Verklebeprozesses als sehr vorteilhaft erwiesen. Das andere Bauteil, der Deckel, dient zur
- 30 Abdeckung und ist z.B. bei elektrophoretischen Analysensystemen mit den Elektroden versehen. In diesem Fall wird der Deckel erfindungsgemäß als Elektrodendeckel bezeichnet. Für bestimmte Anwendungen können die Analysensysteme eine von dieser bevorzugten Anordnung abweichende Funktionalisierung der Bauteile erfordern. In diesem Fall können

beispielsweise mehr als zwei Bauteile, z.B. zwei Deckel und ein Substrat etc, zusammengefügt werden, um übereinander liegende Kanalstrukturen zu erzeugen, oder weitere Funktionalitäten, wie Detektionssysteme, Reaktionskammern etc., in die Bauteile integriert werden. Erfindungsgemäß werden alle Teile der Durchflußeinheit des Analysensystems, die mittels eines Bondingverfahrens zusammengefügt werden, als Bauteile bezeichnet. Sie können mikrostrukturiert sein, mit Elektroden versehen sein oder andere Funktionalitäten aufweisen. Eine Unterteilung der Bauteile in Substrate und Deckel oder auch Elektrodendeckel, falls das entsprechende Bauteil mit Elektroden versehen ist, dient lediglich der näheren Beschreibung der Ausführungsform der speziellen Bauteile und stellt keine Einschränkung bezüglich weiterer Eigenschaften der Bauteile, wie Mikrostrukturierung etc., oder deren Kombination untereinander dar.

Das Zusammenfügen der Bauteile erfolgt erfindungsgemäß mit hoher Präzision. Der Klebstoff darf nicht in die Kanäle hineinlaufen und deren Oberfläche bedecken, da dies die Oberflächeneigenschaften der Kanäle verändern kann. Es wurde gefunden, daß dies beispielsweise zu verstärkter Adhäsion von Analyten, wie z.B. Proteinen, an den Kanalbereichen führt, die mit Klebstoff benetzt sind. Dies wiederum beeinflußt die Trennqualität der Analysensysteme. Genauso beeinträchtigt das Verkleben der Elektroden mit Klebstoff deren Funktionsfähigkeit.

Weiterhin ist es von großer Bedeutung, daß das Volumen der Kanäle nicht verändert wird, wie dies beispielsweise durch das unkontrollierte Einfließen von Klebstoff geschehen würde. Erfindungsgemäß wird der Kanal zur Verbesserung der Detektionsempfindlichkeit bevorzugt in der Umgebung der Detektionselektroden verengt. Dadurch ist es gerade in diesen Bereichen wichtig, daß kein Klebstoff in den Kanal gelangt.

Zum Zusammenfügen der Bauteile wird erfindungsgemäß bevorzugt zunächst auf das mikrostrukturierte Bauteil an den Stellen, an denen keine

Strukturierung vorliegt, ein Klebstoff aufgebracht. Die Schichtdicke beträgt zwischen 0,5 und 10 µm, bevorzugt zwischen 3 und 8 µm. Typischerweise erfolgt die Auftragung mittels einem aus der Drucktechnik bekannten flächigen Walzenautrag.

5

- In einer bevorzugten Ausführungsform wird hierzu über eine strukturierte metallische Rasterwalze, die ein definiertes Volumen an Klebstoff aufnimmt, ein dünner Klebstofffilm auf eine zweite nicht strukturierte Walze, die mit einem Polymer beschichtet ist, aufgetragen. Von dieser wiederum erfolgt der Auftrag direkt auf das strukturierte Substrat in der Weise, daß sich bevorzugt eine Klebstoffdicke zwischen 3 und 8 µm auf der nicht strukturierten Oberfläche des Substrates ergibt. Je nach verwendetem Kunststoff (Substratmaterial) wird der Übertrag zwischen der Kunststoffwalze und dem Substrat durch eine eventuelle Viskositätssteigerung des Klebstoffes (Vorpolymerisation) beeinflußt. Ein bedeutender Vorteil dieses Verfahrens ist, daß das Substrat relativ zu der den Klebstoff auftragenden Walze nicht positioniert werden muß und trotzdem Klebstoff ausschließlich nur in den nicht strukturierten Bereichen des Substrates aufgebracht ist. Wird zuviel Klebstoff aufgetragen, wird beim Zusammenpressen von Deckel und Substrat Klebstoff in den Kanal einfließen. Ist partiell unzureichend Klebstoff aufgetragen worden, resultieren Undichtigkeiten der Kanalstruktur. Dieses Verbindungsverfahren erfordert eine Ebenheit der Bauteile von bevorzugt kleiner ca. 5 µm/cm Bauteillänge.
- 10 Der verwendete Klebstoff darf die Oberfläche der Bauteile nicht oder nur sehr schwach anlösen, damit die Elektroden beim Verklebungsprozeß nicht vom Klebstoff abgelöst oder unterbrochen werden. Bevorzugterweise wird daher als Klebstoff das Produkt NOA 72, Thiolacrylat der Firma Norland, New Brunswick NJ, USA verwendet. Dieser Kleber wird photochemisch ausgehärtet. Es können jedoch für das Verfahren auch andere Arten von Klebern, wie z.B. thermisch härtende Kleber, verwendet werden, die die oben genannten Voraussetzungen erfüllen.
- 15
- 20
- 25
- 30

Nach dem Aufbringen des Klebstoffs wird das zweite Bauteil mit den Dünnschichtelektroden beispielsweise auf einer Belichtungsmaschine zu dem Substrat geeignet positioniert und aufgepreßt. Hierzu wird bevorzugt 5 das Substrat mit dem aufgebrachten Klebstoff in der Belichtungsmaschine in der sonst für Silizium-Wafer vorgesehenen Position fixiert. Bevorzugt ist die Verwendung von starken Glasplatten als Preßfläche, da so direkt die Positionierung und die photochemische Härtung des Klebers durch Bestrahlung mit einer Hg-Lampe (Emissionswellenlänge 366 nm) 10 durchgeführt werden kann. Der Elektrodendeckel wird in der für die Belichtungsmaske vorgesehenen Position fixiert, indem er mit einer Glasplatte eingravierten Vakuumvorrichtung gehalten wird. Da sowohl der Elektrodendeckel als auch die zur Halterung des Deckels verwendete Glasplatte transparent sind, kann durch diese Anordnung hindurch der 15 Deckel bezüglich des Substrates justiert werden. Falls der Deckel über das Substrat hinausragt, kann dieser auch mechanisch gehalten werden.

Die Positionierung des Deckels auf dem Substrat kann für den Klebevorgang typischerweise neben einer optisch mechanischen Justage unter 20 Zuhilfenahme von optischen Justagemarken auch passiv mechanisch mit Hilfe einer Einrastvorrichtung, optisch mechanisch ohne besondere Justagemarken oder elektrisch mechanisch mit Hilfe von elektrischen Marken (Kontakten) erfolgen.

25 Es wurde gefunden, daß die bevorzugten optischen metallischen Justagemarken auf dem Deckel in demselben Prozeßschritt wie die Elektroden aufgebracht, d.h. bevorzugt aufgesputtert, werden können, d.h. es ist kein Mehraufwand notwendig. Auch die entsprechenden Gegenstrukturen auf dem Substrat erfordern keine zusätzliche 30 Prozessierung, da diese gemeinsam mit den Kanalstrukturen in einem Abformschritt in das Substrat eingebracht werden. Für die optisch mechanische Justage muß zumindest ein Bauteil aus einem transparenten

- Kunststoff bestehen. Mit Hilfe der erfindungsgemäß aufgebrachten Justagemarken werden die beiden Bauteile mit einer Genauigkeit von mindestens $\pm 10 \mu\text{m}$, typischerweise sogar $\pm 2 \mu\text{m}$ (z.B. Soll- zu Ist-Position der Detektorelektrode) zueinander positioniert und zusammengepreßt. Die hohe Positioniergenauigkeit unterstützt die Realisierung reproduzierbarer Analyseergebnisse. Nun wird mit einer UV-Lampe der Klebstoff polymerisiert. Nach dem Abschalten des Vakuums für die Deckelhalterung bzw. Lösen der mechanischen Fixierung wird die Durchflußeinheit aus der Belichtungsmaschine entnommen.
- In einer anderen bevorzugten Ausführungsform wird ein Bauteil mittels eines in der Drucktechnik bekannten Verfahren (Tampon-Druck) mit Klebstoff versehen. Das mit den Elektroden versehene Bauteil wird dazu auf den Bereichen, die beim Zusammensetzen der beiden Bauteile nicht über einem Kanal liegen oder elektrisch kontaktiert werden müssen mit dem Kleber benetzt. Mikrostrukturierte Bauteile werden so benetzt, daß kein Klebstoff in die Kanalstruktur oder sonstige Aussparungen gelangt. Bei dem Tampon-Druck handelt es sich um einen strukturierten Kleberauftrag. In einer Negativform des Substrates wird Klebstoff bevoorratet. Durch ein typischerweise Silikonkissen wird dieser Klebstoff strukturiert aufgenommen und z.B. auf den Deckel so aufgebracht, daß die Bereiche, die später eine Wand eines Fluidikanals bilden, nicht mit Klebstoff benetzt werden. Das Bauteil mit den Kanalstrukturen wird anschließend, wie bereits beschrieben, geeignet zu seinem Gegenstück positioniert und aufgepreßt.
- Die Aushärtung erfolgt wie oben beschrieben.
- Auch ein strukturierter Kleberauftrag mittels Sprühtechniken (z.B. microdrop-Verfahren) oder unter Verwendung der Siebdrucktechnik ist möglich, sofern die laterale Auflösung des Kleberauftrags ausreicht.
- Unter Aufpressen des zweiten Bauteils bzw. Zusammenpressen der Bauteile ist erfindungsgemäß zu verstehen, daß die Bauteile geeignet

miteinander in Kontakt gebracht werden. Um nach der Aushärtung eine dauerhafte Verbindung der Bauteile zu erzielen, ist es zumeist nicht notwendig, eine große Kraft auszuüben, d.h. die Bauteile sehr stark aufeinander zu pressen.

5

Wird der Aushärteprozeß des Klebers außerhalb der zur Positionierung von Deckel und Substrat verwendeten Justagevorrichtung durchgeführt, können der metallisierte Deckel und das Substrat, nachdem sie zueinander justiert wurden, mittels Laserschweißen zunächst gehaftet werden. Hiernach wird 10 der Verbund aus der Justagevorrichtung genommen und in einer separaten Belichtungsapparatur oder einem Ofen wird der verwendete Klebstoff ausgehärtet. Diese Vorgehensweise bedeutet eine Prozeßbeschleunigung und Vereinfachung, da das Aushärten nicht mehr in der Justagevorrichtung erfolgen muß.

15

Da die bevorzugterweise verwendeten thermoplastischen Materialien für Laserlicht im sichtbaren und nahinfraroten Wellenlängenbereich weitestgehend transparent sind, erfordert das Laserschweißen in diesem Wellenlängenbereich eine Absorberschicht zum Absorbieren der optischen 20 Leistung an der Grenzfläche zwischen Deckel und Substrat. Diese Absorberschicht wird gleichzeitig mit dem Aufbringen der Leistungs- bzw. Detektorelektroden aufgebracht. Beispielsweise kann der Elektrodendeckel beim Besputtern der Elektroden mit Edelmetall zusätzlich an weiteren Stellen mit einer Edelmetallschicht als Absorberschicht besputtert werden.

25

Das Verschweißen eines mit 200 nm dicken Platin-Elektroden versehenen Elektrodendeckels, der somit auch zusätzliche Platin-Flächen zum Absorbieren der Laserleistung beinhaltet, mit einem Substrat (Basismaterial PMMA) erfolgt mit Diodenlaserstrahlung (Wellenlängengemisch aus 808, 30 940 und 980 nm) mit einer Leistung von 40 Watt bei einem Fokussdurchmesser von 1,6 mm. Die Platin-Schicht wird beim Verschweißen zerstört.

- Alternativ ist auch die Verwendung eines z.B. mit Rußpartikeln gefüllten Substrates oder Deckels als Absorber möglich. Diese letztgenannte Vorgehensweise, hat aber zum Nachteil, daß dann mindestens eine 5 Kanalwand aus einem anderen Material besteht. Auch die Möglichkeiten, optische Leistung für optische Detektionszwecke in den Kanal ein- oder auszukoppeln, werden dadurch eingeschränkt.
- Die Kontaktierung der Transport- und Detektionselektroden sowie die 10 automatische Regelung und das Umschalten des elektrischen Flusses erfolgen nach dem Fachmann bekannten Methoden.
- Auf diese Weise können Transport- und Detektionselektroden derart in die mikrostrukturierten Analysensysteme integriert werden, daß eine oder 15 mehrere erfindungsgemäße Ausschleusevorrichtungen erzeugt werden. Die Integration der Ausschleusevorrichtungen erfordert weder zusätzlichen Aufwand noch wird die Qualität (Stabilität, Größe etc.) der Analysensysteme beeinflußt.
- Somit stellt die erfindungsgemäße Vorrichtung eine wichtige zusätzliche 20 Funktionalität für planare mikrostrukturierte Analysensysteme dar. Sie ermöglicht erstmals das Design multifunktioneller mikrostrukturierter Analysensysteme bzw. Durchflußeinheiten für Analysensysteme. Die Systeme sind nicht nur in der Lage, Proben aufzutrennen, sie können 25 vielmehr Proben trennen, identifizieren und selektieren, ohne daß die Probe das Analysensystem verläßt. Dies eröffnet auch die Möglichkeit, lediglich bestimmte Probenbestandteile nach der Ausschleusung aus dem Analysensystem auszuführen, oder diese im System weiteren 30 Derivatisierungs- oder Analyseschritten zu unterwerfen.
- Durch die beschriebenen Herstellverfahren der Elektroden und Bondingverfahren können erstmals geschlossenen Mikrokanalstrukturen

erzeugt werden, in denen Elektroden an beliebigen Stellen innerhalb der Kanäle positioniert werden können. Strukturierte Bauteile (Substrate) können flüssigkeits- und gasdicht mit beispielsweise Elektrodendeckeln versehen werden. Durch die Verwendung zumeist kommerziell erhältlicher Kunststoffe und einfacher Verarbeitungsschritte können derartige Analysensysteme kostengünstig und in großen Zahlen produziert werden.

Durch das spezielle Verfahren zum Zusammenfügen bzw. Bonden, werden die Bauteile so mit Klebstoff benetzt, daß nach dem Zusammenfügen kein Klebstoff in das Innere des Kanalsystems, d.h. in die Kanäle, die Wände oder auf in das Kanalsystem ragende Elektroden oder sonstige Vorrichtungen gelangt. Dadurch wird die Trennqualität und Analyseempfindlichkeit der Systeme verbessert. Sie erfüllen alle Anforderungen, die an ein variabel einsetzbares, genau arbeitendes Analysensystem gestellt werden müssen:

- Sie zeigen hohe Dimensions- und Volumenstabilität der Kanäle.
- Durch die Festigkeit der Klebeverbindungen sind sie im Inneren der Kanäle druckstabil.
- Es besteht eine große Variabilität bezüglich der verwendbaren Kunststoffe.

Es können chemisch inerte Materialien für Bauteile und Elektroden verwendet werden.

- Alle vier Kanalwände bestehen bevorzugt aus dem gleichen Material.
- Die Elektroden sind auf $\pm 10 \mu\text{m}$ genau an beliebigen Stellen der Kanäle positionierbar.

Die Kontaktflächen der Elektroden sind frei von Verunreinigungen durch Klebstoff.

- Die Elektroden können leicht angeschlossen werden.
- Die Systeme zeigen geringen Innenwiderstand und erlauben potentiell hohe Stromdichten.

Abbildung 2 veranschaulicht das Ausschleusen einer Substanz mithilfe der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Es werden drei verschiedene Stadien des Ausschleusens in den Bildern A, B und C gezeigt. Die schematisierte Ausschleusungsvorrichtung besteht aus einem Y-verzweigten Kanalsystem

5 mit den Transportelektroden 1, 2 und 3 an den Enden der Kanäle. Das Kanalstück zwischen Elektrode 1 und 2 dient als Trennkanal, der zu Elektrode 3 abzweigende Kanal ist der Ausschleusungskanal. Kurz vor Abzweigung des Ausschleusungskanals befindet sich im Trennkanal eine Detektorelektrode 4. In Bild A wandern die zu trennenden Substanzen 5 und 6 aufgrund eines Potentials zwischen den Elektroden 1 und 2 entlang des Trennkanals. Bild B zeigt den Moment, in dem die gesuchte Substanz 5 die Detektorelektrode passiert. Das detektierte Signal, beispielsweise die spezifische relative Leitfähigkeit, bewirkt ein Umschalten des Potentials, so daß nun ein Potential zwischen Elektrode 1 und 3 besteht. Dadurch

10 wandert, wie in Bild C gezeigt, Substanz 5 in den Ausschleusekanal und wird so von Substanz 6, die sich im Trennkanal befindet, separiert.

Nachdem Substanz 5 den Detektorbereich passiert hat und in den Ausschleusungskanal gewandert ist, kann das Potential erneut

15 umgeschaltet werden, damit keine weiteren Substanzen in den Ausschleusungskanal gelangen.

Abbildung 3 zeigt schematisch ein Beispiel eines miniaturisierten planaren Analysensystems mit integrierter erfindungsgemäßer Vorrichtung zum Ausschleusen von Proben. Das System enthält einen Trennkanal T1 mit

25 zwei Transport- bzw. Leistungselektroden E3 und E5 an den Enden und zwei Detektionselektroden E1 und E2 kurz vor der Verzweigungsstelle V des Kanalsystems. An der Verzweigungsstelle V zweigt ein Kanal ab, der sich wiederum dreifach verzweigt. An den Enden befinden sich ein Reservoir P, ein Mischungsreaktor R und ein weiteres Reservoir mit einer

30 Leistungselektrode E4. Wird nun ein Substanzgemisch entlang des Trennkanals T1 aufgetrennt, kann mithilfe der Detektionselektroden E1 und E2 festgestellt werden, wann die gewünschte Probensubstanz an die

Verzweigungsstelle V des Kanalsystems gelangt. In diesem Moment wird das Potential umgeschaltet, so daß nun eine Potentialdifferenz zwischen E5 und E4 besteht. Dadurch wandert die ausgewählte Substanz in die Abzweigung des Kanalsystems. Nachdem die Detektionselektroden E1 und 5 E2 anzeigen, daß die Substanz die Verzweigungsstelle passiert hat, kann das Potential erneut umgeschaltet werden. Die in die Abzweigung abgesonderte Substanz kann nun mechanisch durch einen Flüssigkeitsstrom aus dem Reservoir bei E4 in den Mischungsreaktor R transportiert werden. Zusätzlich können durch einen ähnlichen Flüssigkeitsstrom 10 ausgehend von dem Reservoir P parallel weitere Substanzen, z.B. Reaktanden zur Derivatisierung, in den Mischungsreaktor geleitet werden, wo sie sich mit der Probensubstanz mischen und gegebenenfalls mit dieser reagieren.

15 Abbildung 4 zeigt schematisch ein Beispiel eines miniaturisierten planaren Analysensystems mit integrierter erfundungsgemäßer Vorrichtung zum Ausschleusen von Proben, einer Vorrichtung zur Aufgabe definierter Probenvolumina und einem Trennkanal. Ein solchen Analysensystem bietet die Möglichkeit, ein definiertes großes Probenvolumen aufzugeben, dieses 20 beispielsweise mittels ITP aufzutrennen, durch die erfundungsgemäße Ausschleusevorrichtung eine bestimmte Fraktion der Probe zu separieren und optional die abgetrennte Fraktion oder den Rest der Probe erneut aufzutrennen und zu analysieren oder aus dem System zu entfernen. Die Vorrichtung zur Probenaufgabe besteht aus den Kanalabschnitten K1 und 25 K2, die von den Fluidikanschlüssen F1 und F2 bzw. F2 und F3 begrenzt werden. Als Fluidikanschlüsse dienen typischerweise dichtschließende Mikropumpen oder Mikropumpen und Ventile. Das Volumen des Kanalabschnitts K1 beträgt typischerweise 5 oder 10 µl, das des Kanalabschnitts K2 0,5 oder 1 µl. Durch Öffnen des Fluidikanschlusses F2 30 und gleichzeitiges Befüllen des Kanalabschnitts K1 mit der Probenlösung über den Fluidikanschluß F1 wird ein durch das Volumen von K1

bestimmtes definiertes Volumen der Probe in das Kanalsystem gefüllt. Ein größeres Volumen kann aufgegeben werden, wenn statt des Fluidikanschlusses F2 der Fluidikanschluß F3 geöffnet wird. Dann ergibt sich das aufgegebene Volumen der Probe aus der Summe der Volumina der

5 Kanalabschnitte K1 und K2. Soll das Volumen der aufgegebenen Probe dagegen kleiner sein, wird durch Öffnen der Fluidikanschlüsse F2 und F3 lediglich der Kanalabschnitt K2 gefüllt. Durch Variation der Größe der Kanalabschnitte K1 und K2 oder auch durch Hinzufügen weiterer mit Fluidikanschlüssen begrenzter Kanalabschnitte kann so das Aufgabevolumen variiert und an die entsprechenden Anforderungen der Probe angepasst werden. Die Auftrennung der Probe erfolgt in dem sich anschließenden Kanalsystem (K3, K4, K5). Dazu befinden sich an den Enden des gesamten Kanalsystems, d.h. anschließend an K1, K4 und K5 jeweils Flüssigkeits- oder Pufferreservoir R1, R2 und R3 sowie

10 Leistungselektroden L1, L2 und L3. Die Pufferreservoir können über die Fluidikanschlüsse F1, F4 bzw. F5 gefüllt werden. Falls lediglich Kanalabschnitt K1 zur Probenaufgabe verwendet wird, kann zusätzlich Kanalabschnitt K2 zur Verlängerung der Trennstrecke eingesetzt werden. Die Trennung der Probe kann z.B. bei rein analytischen Fragestellungen über

15 Kanalabschnitt K3 bis zu Kanalabschnitt K5 ausgedehnt werden. Die Detektion erfolgt dann mittels der kurz vor R3 angebrachten Detektionselektroden D3 und D4. Soll eine Fraktion der Probe von dem Rest getrennt werden, wird die erfindungsgemäße Vorrichtung zum Ausschleusen verwendet. Diese wird gebildet durch den Trennkanal-

20 abschnitt K3, die Verzweigungsstelle Vz, die beiden abzweigenden Kanalabschnitte K4 und K5, die vor der Verzweigungsstelle Vz befindlichen Detektionselektroden D1 und D2 sowie durch eine nicht in der Abbildung dargestellte Schaltvorrichtung zur Steuerung der Leistungselektroden.

25 Sobald die gewünschte Fraktion während der Trennung die Detektions-elektroden D1 und D2 passiert, kann das Potential der Leistungselektroden L1, L2 und L3 entsprechend modifiziert werden. Falls zunächst der Transport von L3 zu L2 erfolgte, kann die Fraktion durch Umschalten auf

eine Potentialdifferenz zwischen L3 und L1 an der Verzweigungsstelle Vz in den Kanal K4 ausgeschleust werden. Nachdem die Fraktion Vz passiert hat, wird durch erneutes Umschalten der Rest der Probe wieder in K5 transportiert. Die ausgeschleuste Fraktion kann dann über den Fluidik-
5 anschluß F4 aus dem Analysensystem entnommen werden. Der in K5 verbliebene Rest der Probe kann über die Detektionselektroden D3 und D4 erneut analysiert werden. Genauso kann die auszuschleusende Fraktion durch andere Schaltung der Leistungselektroden an Vz in Kanalabschnitt K5 ausgeschleust werden, während der Rest der Probe in Kanalabschnitt 4
10 transportiert wird. In diesem Fall kann die ausgeschleuste Fraktion an D3/D4 erneut detektiert werden. Weiterhin besteht die Möglichkeit, das Kanalsystem mit zwei unterschiedlichen Puffersystemen zu befüllen und so zwei unterschiedliche Trennungen direkt hintereinander durchzuführen.
Dazu werden die Kanalabschnitte K3 und optional zusätzlich K2 mit dem
15 ersten Puffersystem gefüllt. Ab der Verzweigungsstelle Vz werden die Kanalabschnitte K4 und K5 mit dem zweiten Puffersystem befüllt. Die erste Trennung erfolgt entlang K2/K3. An Vz kann dann eine Fraktion der Probe in Kanalabschnitt K5 ausgeschleust werden oder auch die gesamte Probe in diesen Kanalabschnitt überführt werden. Sobald die Probe diesen
20 Kanalabschnitt mit dem anderen Puffersystem erreicht, erfolgt dann die zweite Trennung. Die Kontrolle der beiden Trennungen erfolgt über die Detektionselektroden D1 und D2 für die erste Trennung und das optionale Ausschleusen, sowie mit D1/D2 für die Kontrolle der zweiten Trennung. Auf diese Weise können z.B. eine isotachophoretische Trennung und eine
25 elektrophoretische Trennung oder auch zwei isotachophoretische Trennungen kombiniert werden.

Auch ohne weitere Ausführungen wird davon ausgegangen, daß ein Fach-
30 mann die obige Beschreibung im weitesten Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen und Beispiele sind deswegen lediglich als

beschreibende, keineswegs als in irgendeiner Weise limitierende Offenbarung aufzufassen.

- Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten
5 Anmeldungen, Patente und Veröffentlichungen, sowie der korrespondierenden Anmeldung DE 199 27 535, eingereicht am 16.06.1999, ist durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeführt.

10

15

20

25

30

Ansprüche

1. Vorrichtung zum Ausschleusen von Fraktionen für planare mikrostrukturierte Analysensysteme, im wesentlichen bestehend aus
5 einem verzweigten Kanalsystem, mindestens drei Transportelektroden , mindestens einer Detektionsvorrichtung vor einer Verzweigungsstelle des Kanalsystems und einer elektrischen Schaltvorrichtung.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die
10 Detektionsvorrichtung ein elektrochemischer Detektor ist.
3. Verwendung einer Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2 in einem planaren, mikrostrukturierten Analysensystem.

15

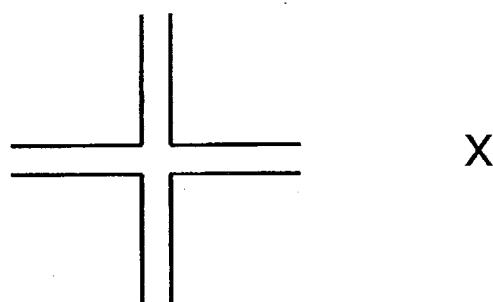
20

25

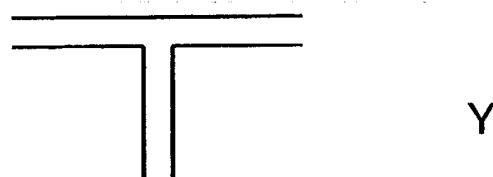
30

1/4

Fig. 1



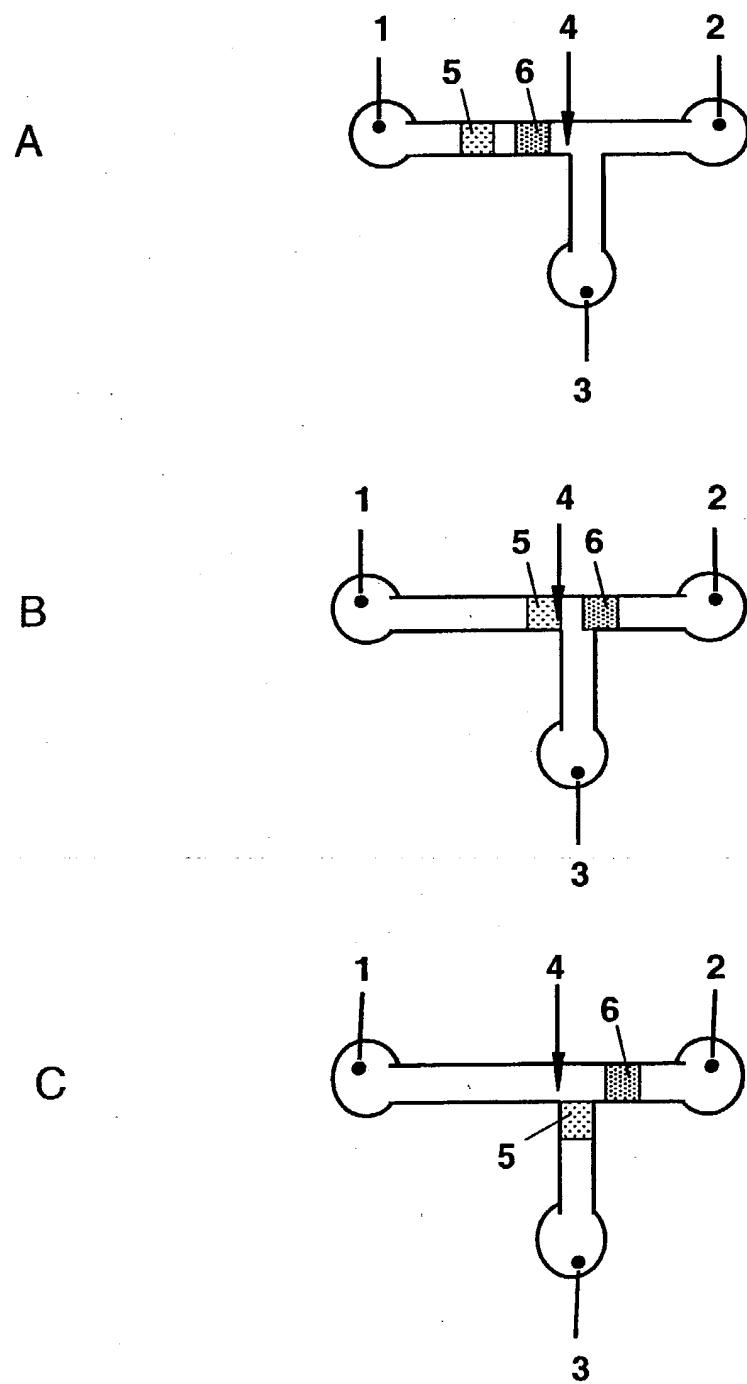
X



Y

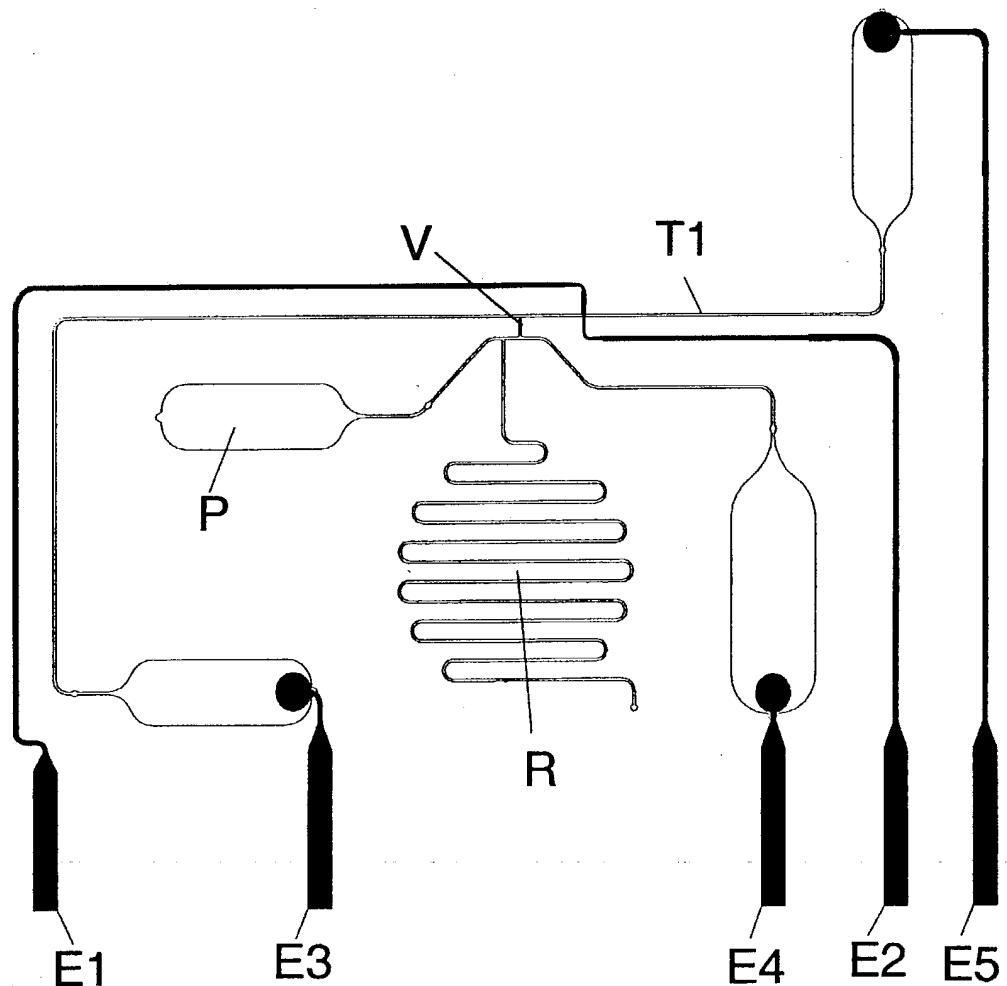
2/4

Fig. 2



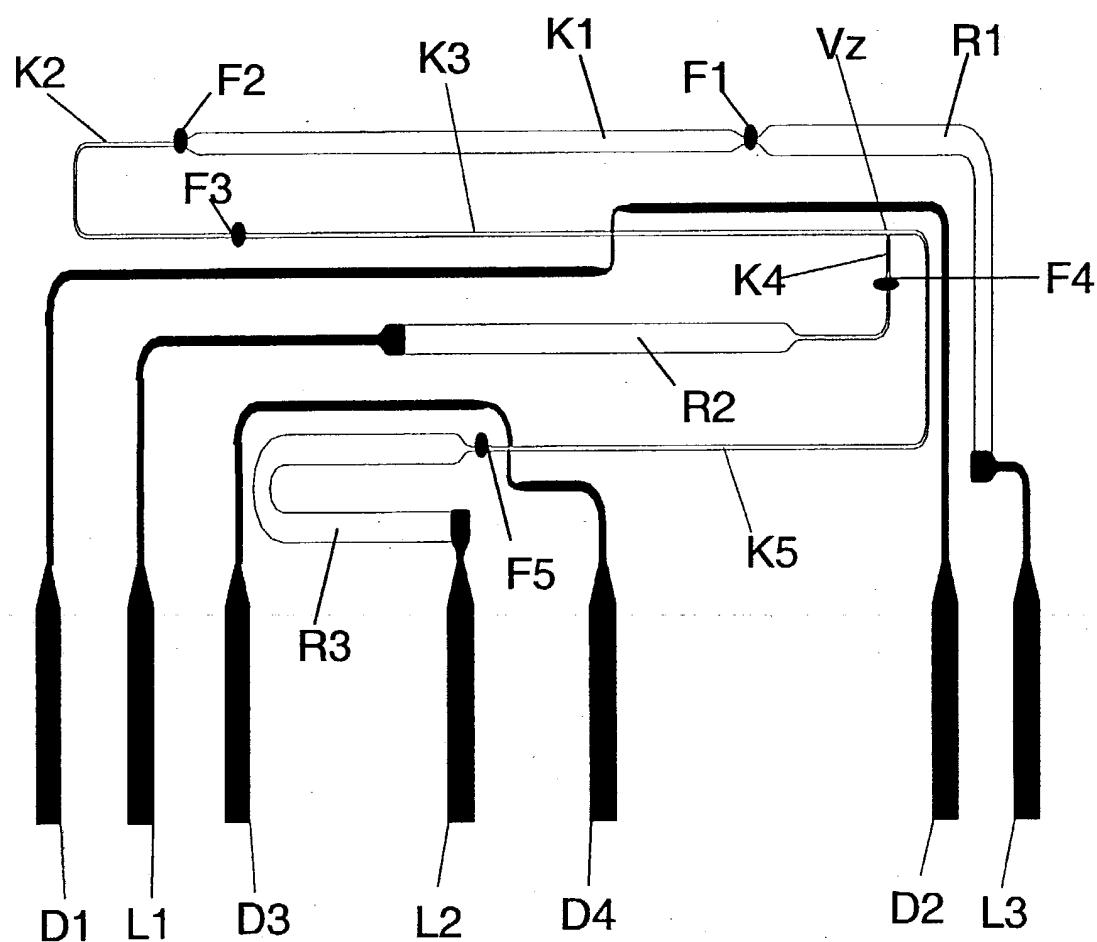
3/4

Fig. 3



4/4

Fig. 4



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 00/05205

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N27/447

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 96 42013 A (VISIBLE GENETICS INC ;YAGER THOMAS D (CA); WATERHOUSE PAUL (CA); I) 27 December 1996 (1996-12-27) abstract	1-3
X	WO 96 04547 A (LOCKHEED MARTIN ENERGY SYS INC ;RAMSEY J MICHAEL (US)) 15 February 1996 (1996-02-15) the whole document	1-3
A	WO 98 09161 A (UNIV CALIFORNIA) 5 March 1998 (1998-03-05) the whole document	1-3
A	WO 98 49549 A (ORION RESEARCH) 5 November 1998 (1998-11-05) the whole document	1-3
	-/-	

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 September 2000

Date of mailing of the international search report

17/10/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Brison, 0

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInte...inal Application No
PCT/EP 00/05205

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 816 837 A (CALIPER TECHN CORP) 7 January 1998 (1998-01-07) the whole document	1-3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 00/05205

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9642013	A 27-12-1996	AU 698921	B	12-11-1998
		AU 6271896	A	09-01-1997
		AU 702083	B	11-02-1999
		AU 6274696	A	09-01-1997
		CA 2222628	A	27-12-1996
		CA 2226405	A	27-12-1996
		EP 0830594	A	25-03-1998
		EP 0830595	A	25-03-1998
		JP 11508042	T	13-07-1999
		WO 9642012	A	27-12-1996
		US 6110339	A	29-08-2000
WO 9604547	A 15-02-1996	US 6001229	A	14-12-1999
		AU 701348	B	28-01-1999
		AU 3150895	A	04-03-1996
		CA 2196429	A	15-02-1996
		CN 1168720	A,B	24-12-1997
		EP 0775306	A	28-05-1997
		JP 10507516	T	21-07-1998
		US 6010607	A	04-01-2000
		US 6010608	A	04-01-2000
		US 6033546	A	07-03-2000
		US 5858195	A	12-01-1999
WO 9809161	A 05-03-1998	US 6045676	A	04-04-2000
		US 5906723	A	25-05-1999
		AU 714163	B	23-12-1999
		AU 4090597	A	19-03-1998
		CN 1235674	A	17-11-1999
		EP 0922218	A	16-06-1999
WO 9849549	A 05-11-1998	AU 7170298	A	24-11-1998
EP 0816837	A 07-01-1998	US 5800690	A	01-09-1998
		AU 718697	B	20-04-2000
		AU 3672497	A	21-01-1998
		BR 9710193	A	11-01-2000
		CA 2258699	A	08-01-1998
		EP 0909386	A	21-04-1999
		WO 9800707	A	08-01-1998
		US 5965001	A	12-10-1999

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05205

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G01N27/447

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGEGEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 96 42013 A (VISIBLE GENETICS INC ;YAGER THOMAS D (CA); WATERHOUSE PAUL (CA); I) 27. Dezember 1996 (1996-12-27) Zusammenfassung	1-3
X	WO 96 04547 A (LOCKHEED MARTIN ENERGY SYS INC ;RAMSEY J MICHAEL (US)) 15. Februar 1996 (1996-02-15) das ganze Dokument	1-3
A	WO 98 09161 A (UNIV CALIFORNIA) 5. März 1998 (1998-03-05) das ganze Dokument	1-3
A	WO 98 49549 A (ORION RESEARCH) 5. November 1998 (1998-11-05) das ganze Dokument	1-3
	-/-	

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmelde datum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmelde datum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausegeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmelde datum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindenderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindenderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Abendebedatum des internationalen Recherchenberichts
25. September 2000	17/10/2000
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3018	Bevollmächtigter Bediensteter Brison, O

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHTInter nationale Aktenzeichen

PCT/EP 00/05205

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 816 837 A (CALIPER TECHN CORP) 7. Januar 1998 (1998-01-07) das ganze Dokument	1-3

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05205

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9642013 A	27-12-1996	AU 698921 B AU 6271896 A AU 702083 B AU 6274696 A CA 2222628 A CA 2226405 A EP 0830594 A EP 0830595 A JP 11508042 T WO 9642012 A US 6110339 A	12-11-1998 09-01-1997 11-02-1999 09-01-1997 27-12-1996 27-12-1996 25-03-1998 25-03-1998 13-07-1999 27-12-1996 29-08-2000
WO 9604547 A	15-02-1996	US 6001229 A AU 701348 B AU 3150895 A CA 2196429 A CN 1168720 A,B EP 0775306 A JP 10507516 T US 6010607 A US 6010608 A US 6033546 A US 5858195 A	14-12-1999 28-01-1999 04-03-1996 15-02-1996 24-12-1997 28-05-1997 21-07-1998 04-01-2000 04-01-2000 07-03-2000 12-01-1999
WO 9809161 A	05-03-1998	US 6045676 A US 5906723 A AU 714163 B AU 4090597 A CN 1235674 A EP 0922218 A	04-04-2000 25-05-1999 23-12-1999 19-03-1998 17-11-1999 16-06-1999
WO 9849549 A	05-11-1998	AU 7170298 A	24-11-1998
EP 0816837 A	07-01-1998	US 5800690 A AU 718697 B AU 3672497 A BR 9710193 A CA 2258699 A EP 0909386 A WO 9800707 A US 5965001 A	01-09-1998 20-04-2000 21-01-1998 11-01-2000 08-01-1998 21-04-1999 08-01-1998 12-10-1999